

**Über den Einfluß bestimmter
Metallionen auf das Wachstum
des *Mikrosporum gypseum*
und *Trichophyton mentagrophytes***

Emmanuel Aronis

1960



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER DERMATOLOGISCHEN KLINIK UND POLIKLINIK
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. A. Marchionini

**Über den Einfluß bestimmter
Metallionen auf das Wachstum
des *Mikrosporum gypseum*
und *Trichophyton mentagrophytes***

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Emmanuel Aronis
aus Athen

München 1960

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Professor Dr. H. GÖTZ
Correferent:	Professor Dr. A. MARCHIONINI
Dekan:	Professor Dr. Dr. H. EYER

Tag der mündlichen Prüfung: Rig. v. 4.11. - 21.12.1960



Meinem lieben Vater
in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS ⁺⁾

A. EINLEITUNG

B. MATERIAL UND METHODEN

1. Verwendete Dermatophyten
2. Art des Nährbodens und dessen Gehalt an bestimmten Anionen und Kationen
3. Geprüfte Metallionen im biologischen Test
4. Behandlung der zu den Versuchen dienenden Glaswaren

C. ERGEBNISSE

- I. Das Verhalten der Testpilze nach Zusatz von Magnesiumionen
- II. Das Verhalten der Testpilze nach Zusatz von Cobaltiumionen
- III. Das Verhalten der Testpilze nach Zusatz von Cuprumionen
- IV. Das Verhalten der Testpilze nach Zusatz von Zincumionen
- V. Das Verhalten der Testpilze nach Zusatz von Bariumionen

D. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

E. ZUSAMMENFASSUNG

F. LITERATURVERZEICHNIS

⁺⁾ Diese Arbeit wurde ermöglicht durch ein Stipendium der Alexander von Humboldt-Stiftung.

A. EINLEITUNG

Die Spurenelemente stellen nach den Untersuchungen von HART, SCHULTZE, SHELINE, HAWK, MacCARDLE, ENGMAN und ENGMAN, MARSTON, MacCOLLUM und ORENT wichtige Aufbaustoffe für den menschlichen sowie tierischen Organismus dar. Der gleiche Einfluss von Metallionen konnte auch für das Wachstum von Bakterien (EISENBERG, WINSLOW und HOTCHKISS, DELÉPINE und GREENWOOD) ermittelt werden. DELÉPINE und GREENWOOD sowie WINSLOW und HOTCHKISS stellten fest, dass Metalle in gewissen Konzentrationen eine stark hemmende Wirkung auf ihre Entwicklung ausüben. In kleineren Konzentrationen wirken sie dagegen wachstumsfördernd. EISENBERG wies in einer Veröffentlichung (1919) den Einfluss der Kationen bestimmter Salze auf das Wachstum des Bacterium coli nach (Tabelle I). Die Frage der Bedeutung derartiger Kationen in Spuren für das Wachstum der menschen- und tierpathogenen Pilze ist noch offen. Ihre Klärung wäre nicht nur in theoretischer, sondern vielleicht auch in praktischer Hinsicht bedeutungsvoll (Therapie!).

TABELLE I

Einfluss der Metallsalze⁺⁾ auf das Wachstum des Bacterium coli (nach EISENBERG)

Metallsalze	Kein Wachstum	Wachstum
Ba CL ₂	0,25	0,1
Mg CL ₂	0,50	0,25
Co CL ₂	0,0005	0,0001
Cu CL ₂	0,001	0,0005
Zn CL ₂	0,001	0,0005

<sup>+) Molekulare Konzentrationen
Nährboden: 1 % Pepton-Wasser
Inkubationsperiode: 3 Tage</sup>

In dem uns vorliegenden medizinischen Schrifttum fehlen Angaben über entsprechende Untersuchungen. Lediglich von METZ, STEINBERG, SAUTON, KIENE, BERTRAND, SAKAMURA finden sich Mitteilungen über den Einfluss verschiedener Metallionen auf das Wachstum von Schimmelpilzen (*Aspergillus niger* usw.). So weisen STEINBERG und BORTELS wie auch RAULIN auf die Unentbehrlichkeit von Zink für das Wachstum der *Aspergillus niger* hin. Eine Nährlösung soll etwa 0,1 - 1 mg Zink je 100 cm³ enthalten (RIPPEL-BALDES). Im gleichen Sinne stellte auch STEINBERG die Notwendigkeit der Gegenwart von Eisen, Kupfer, Mangan, Molybdän und Gallium für das Wachstum des *Aspergillus niger* fest. Einen günstigen Einfluss von Eisen, Zink und Kupfer auf die Farbstoffbildung bei Penicillien und Fusarien konnte METZ beobachten. Ebenfalls war nach SCHWARTZ und STEINHART das Vorhandensein von Kupferspuren (0,00001 %) für das Wachstum von *Aspergillus niger* erforderlich, während grössere Mengen dieses Elementes (0,001 %) ein normales Wachstum verhinderten. WOLF und EMMERIE gaben 0,2 mg Kupfer auf 250 cm³ Kulturflüssigkeit als notwendiges Minimum für das Wachstum an. Geringgradige Mengen von Kobalt begünstigten nach PIRSCHLE bei *Aspergillus niger* das Wachstum. Auf bestimmte Pilzarten wie *Penicillium cupriphilum*, *Dematium pullulans* und *Oospora viscosa* übten indessen grössere Zusätze von Kupfer nach den Beobachtungen von SAITO keinen Einfluss aus, während bei Hefekulturen dieses Element auch fehlen konnte (KIENE). Im Gegensatz zu den zitierten Autoren beschränkten sich unsere Untersuchungen auf Dermatophyten. Über das Ergebnis dieser Untersuchungen wird in vorliegender Arbeit berichtet.

B. MATERIAL UND METHODEN

1. Verwendete Dermatophyten

Zu den vorliegenden Untersuchungen zogen wir zunächst drei Pilzarten heran. Wir gingen dabei von der Überlegung aus, mit möglichst sporenenreichen Arten zu arbeiten.

1. *Mikrosporum gypseum*
2. *Epidermophyton floccosum*
3. *Trichophyton mentagrophytes*

Die Pilzstämme wurden auf einem GRÜTZ III-Nährboden 4 Wochen lang gezüchtet. Die Entnahme des Pilzmaterials geschah unter sterilen Kautelen mittels einer Platinöse von der Oberfläche der Kulturen in Mengen, wie sie in Tabelle II veranschaulicht werden.

TABELLE II

Gewichte des geernteten Testpilzmaterials

Mikrosporum gypseum	59,60 mg
Epidermophyton floccosum	61,04 mg
Trichophyton mentagrophytes	58,70 mg

Das gewonnene Pilzmaterial wurde im Mörser vorsichtig verrieben und unter allmählichem Zusetzen von Aqua bidest. steril. eine homogene Suspension hergestellt. Jeweils 0,4 ml dieser Suspensionen dienten zur Weiterbeimpfung der Kulturröhrchen für die Versuche. Die Berechnung der übertragenen Pilzmenge aus dem Volumen der einzelnen Suspensionen zeigt die Tabelle III.

TABELLE III

Berechnung der Pilzmenge für die Beimpfung der Kulturröhrchen

	Volumen	Pilzmenge
Mikrosporum gypseum	0,4	0,954
Epidermophyton floccosum	0,4	0,977
Trichophyton mentagrophytes	0,4	0,939

Die Pilzkulturen entwickelten sich 10 Wochen lang bei Zimmertemperatur (ca. 20° C.) in einem flüssigen Nährboden (s. unten). Das erste Anzeichen eines Wachstums wurde erst nach ca. 4 Wochen beobachtet. Bei makroskopischer Betrachtung hatte sich ein weissflockiger Niederschlag gebildet, der beim Schütteln aufstieg. Die Spezifität des Pilzwachstums wurde in jedem Falle durch Übertragung auf feste Nährböden und durch die mikroskopische Betrachtung von Nativpräparaten erbracht.

2. Art des Nährbodens und dessen Gehalt an bestimmten Anionen und Kationen

a) Chemische Daten

Zur Durchführung der Versuche benutzten wir anfangs den Nährboden GRÜTZ III, bestehend aus: Pepton 0,5 %, Nervinamalz 6,0 %, Glycerin 5,0 %, NaCl 0,5 %, Agar-Agar 1,8 %. Im Verlaufe der weiteren Untersuchungen erwies sich dieser Nährboden als nicht geeignet, so dass in der Folge ein flüssiger Nährboden aus Aqua bidest. steril. unter Zusatz von 3 %iger d-Glukose und 2 %igem NH_4NO_3 Verwendung fand. Die Glukose (pro analysi der Firma "British drug Houses Ltd. Poole/England) wies den geringsten Verunreinigungsgrad und nur geringgradige Spuren von Cl, SO_4 , SO_2 , SO_3 , Fe, Pb und As auf. Das NH_4NO_3 (MERCK) enthielt Spuren von Anionen sowie Pb, Fe, Ca und Mg. Die Konzentration des letzteren Metalls betrug höchstens 0,001 % = 1 mg Mg pro 100 g NH_4NO_3 . Zur Erzielung einer gleichmässigen Wasserstoffionenkonzentration fand jeweils eine Einstellung des Nährbodens auf einen pH-Wert von 5,7 - 5,9 mittels Lyphan-Papiers statt. Zum Einstellen des pH-Wertes dienten reine Normallösungen von HCl und NaOH (pro analysi).

b) Physikalische Bestimmung von Metallionenspuren

Zur quantitativen Feststellung der Metallionen fand das Verfahren der Bogenphotospektrographie (GERLACH und GERLACH) Anwendung. Die Spektrallinien der Metallionen sind als charakteristisch anzusehen. Dabei verhält sich ihre Intensität proportional zur Konzentration. Ausgehend von der Intensität der Spektrallinien der Eichlösungen von Kupfer, Barium, Kobalt, Magnesium und Zink im Vergleich zu denen von Glukose und Ammoniumnitrat liessen sich Rückschlüsse auf die Konzentrationen der obigen Metallionen im Nährboden ziehen. Zur Anwendung des Verfahrens der quantitativen Bestimmung von Metallionen im Nährmedium wurden jeweils 10 g Glukose und NH_4NO_3 im Platintiegel unter 600°C verascht, der zurückbleibende anorganische Rest in je 0,1 ml HCl ($^{n/1}$ pro analysi) aufgenommen und auf angewärmte Spektralkohle (37°C) gebracht.

Zum Zwecke der Eichung benutzten wir mit Metallionen vorbereitete Kohle als Elektroden. Die gewonnenen Spektren gehören zu der Gruppe der Emmisionsspektren. Darunter versteht man die direkt mit dem Spektralapparat beobachteten oder fotografierten Spektren selbstleuchtender bzw. zum leuchten angeregter Stoffe. Diese entstehen durch Verdampfen auch eines Metalles zwischen 2 Kohleelektroden mittels elektrischer Funken. Die für die einzelnen Metalle spezifischer Spektrallinien sind in Tabelle IV dargestellt.

TABELLE IV

Spektrallinien der Metallionen^{+) (in Angström-Einheiten)}

Mg		Co		Cu		Zn		Ba	
2795	II	3405	I	3247	I	2138	I	4554	II
2802	II	3412	I	3274	I	3302	I	4934	II
2852	I	3453	I			3345	I	5535	I
		3502	I						

+) I - Atomlinien

II - Ionenlinien

Durch Vergleich der Eichwerte mit den im Nährmedium gefundenen Spektrallinien liessen sich Rückschlüsse auf den Gehalt an Metallionen im Nährsubstrat in quantitativer und qualitativer Hinsicht ziehen. Diese vergleichenden Untersuchungen sind in Tabelle V niedergelegt.

3. Geprüfte Metallionen im biologischen Test

Geprüft wurde der Einfluss folgender Salze auf das Pilzwachstum:

Magnesium	als	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Cobaltium	als	$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Cuprum	als	$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Zincum	als	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \cdot \text{H}_2\text{O}$
Barium	als	$\text{BaCl}_2 \cdot 2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Zu den flüssigen Nährböden (3 % d-Glukose + 2 % NH_4NO_3) wurden die Metallionen zu den Kulturröhrchen jeweils in Verdünnungen von 10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-4} und 10^{-2} zugesetzt, wobei jeweils eine neue Pipette verwendet wurde. Zur Kontrolle der obigen Kulturmedien dienten solche ohne Zusatz von Metallionen.

TABELLE V

Nachweis der Metallionen im Nährboden

Metallionen	Atomgewicht	$\text{NH}_4^+ \text{NO}_3^-$	Gamma der Versuchskationen d-Glukose	Pro 100 cm ³ ohne Zusatz	x	Molekulargewicht (pro 1000 cm ³ Nährboden)
Cuprum	63, 54	ca. 5	ca. 1, 1	2, 33		$36,9 \cdot 10^{-8}$
Barium	137, 36	31, 1	0	6, 2		$45 \cdot 10^{-8}$
Zincum	65, 38	0, 5	unter 6, 89	2, 267		$34,8 \cdot 10^{-8}$
Magnesium	24, 32	2	ca. 3, 45	1, 435		$59,8 \cdot 10^{-8}$
Cobaltium	58, 94	konnte nicht festgestellt werden				-

+) jeweils in 10 g der Substanz
(Fehlergrenze in zehntel Gamma)

4. Behandlung der zu den Versuchen dienenden Glaswaren

Zur Vermeidung des Einflusses von Spuren etwaiger Metallionen in bzw. an den Glaswaren verwendeten wir für unsere Untersuchungen das quarzähnliche Glasmaterial "Hysil" aus England. Die Reinigung des Glasmaterials erfolgte mit 18 % HCl, Spülen mit Leitungswasser, Aqua dest. und bidest. steril.

C. ERGEBNISSE

Zu den mit den verschiedenen Testpilzen (*Mikrosporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* und *Epidermophyton floccosum*) beimpften Kulturröhrchen wurden in steigenden Mengen (10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} und 10^{-8}) geordnet nach ihren Molekulargewichten, die Metallionen Mg, Co, Cu, Zn und Ba zugesetzt und das Wachstum der Pilzarten beobachtet. Die geplanten Untersuchungen mit Zusatz von Fe konnten nicht durchgeführt werden, da zur Vermeidung von Hydroxyd-Niederschlägen pH-Werte um 3,0 benötigt werden. In diesem pH-Bereich sistiert praktisch das Pilzwachstum, so dass ein Zusatz dieses Elementes für unsere Untersuchungen nicht in Frage kam.

Das Wachstum der drei Pilzarten wurde je nach seiner Intensität in 8 verschiedenen Abstufungen beurteilt, die mit + bis ++++ in ihren Stärkegraden gekennzeichnet wurden.

In den zur Kontrolle angesetzten Kulturröhrchen ohne Zusatz von Metallionen zeigte der Pilz *Trichophyton mentagrophytes* das stärkste Wachstum (bezeichnet: ++++). Das *Mikrosporum gypseum* wies ein etwas geringeres Wachstum auf (bezeichnet: +++). Hierbei entsprechen in den Abb. I - V jeweils die Ausgangspunkte der Kurven auf der Vertikalen K - K der Wachstumsstärke in den Kontrollröhrchen. Bei dem *Epidermophyton floccosum* konnte kein Anzeichen einer Vermehrung nachgewiesen werden. Ein gleiches Verhalten des *Epidermophyton floccosum* wurde auch nach Zugabe steigender Mengen der Metallionen beobachtet. Demnach liess sich dieser Testpilz bei der gegebenen Versuchsanordnung nicht zu unseren Prüfungen heranziehen (während er aber auf festen Nährböden gut gewachsen war), so dass er bei der weiteren Besprechung unberücksichtigt bleiben konnte.

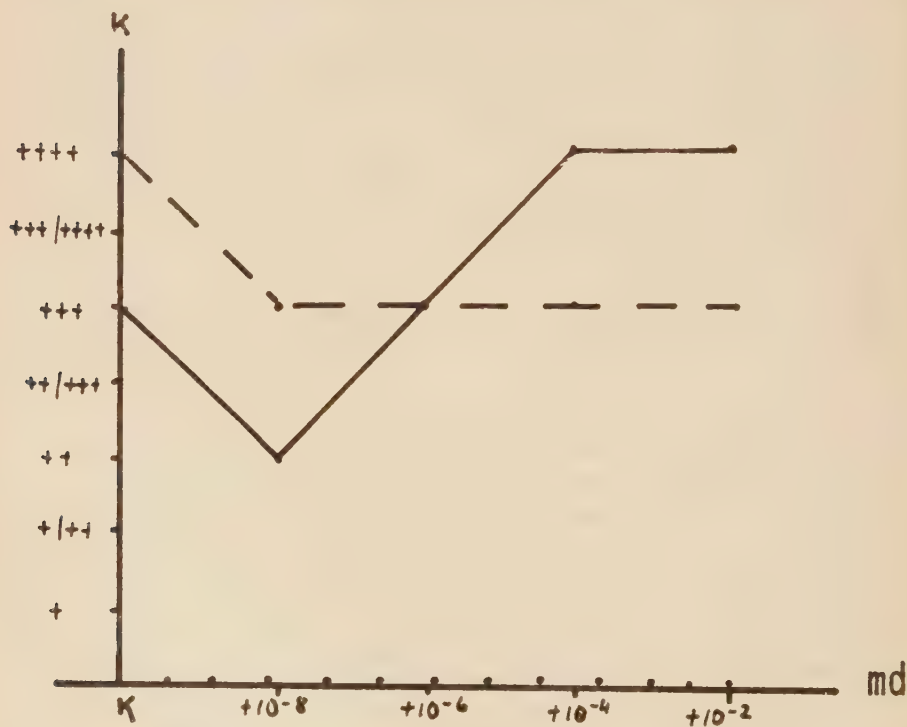
Die nach Zusatz der oben angeführten Metallionen erhaltenen Wachstumsergebnisse mit den Pilzen *Mikrosporum gypseum* und *Trichophyton mentagrophytes* werden in den nachfolgenden Abschnitten einzeln abgehandelt.

I. Das Verhalten der Testpilze nach Zusatz von Magnesiumionen

Nach Zusatz der Verdünnungen von Magnesium zu den Kulturröhrchen des *Trichophyton mentagrophytes* konnte ein befriedigendes Wachstum in den Verdünnungsgraden 10^{-2} bis 10^{-8} festgestellt werden, das allerdings hinsichtlich seiner Intensität zwei Stufen niedriger als das der Kontrollröhrchen lag (s. Abb. I).

ABBILDUNG I

Wachstumskurve der Testpilze nach Zugabe der Verdünnungen von Magnesium (Mg)



Zeichenerklärung:

- - - - - : Wachstumskurve des *Trichophyton mentagrophytes*
- : Wachstumskurve des *Mikrosporum gypseum*
- : Wachstumskurve des *Epidermophyton floccosum*

K

|

K

: Wachstum der Kulturröhrchen ohne Zusatz von Metallionen

Bei Zugabe der gleichen Mengen von Mg zum *Mikrosporum gypseum* wirkten die höheren Konzentrationen des Magnesiums wachstumsfördernd, da bei den Verdünnungen 10^{-2} bis 10^{-6} ein stärkeres bzw. gleiches Wachstum des Pilzes als in den Kontrollröhrchen auftrat. Auffallend war die Wachstumshemmung bei der Verdünnung 10^{-8} (s. Abb. I).

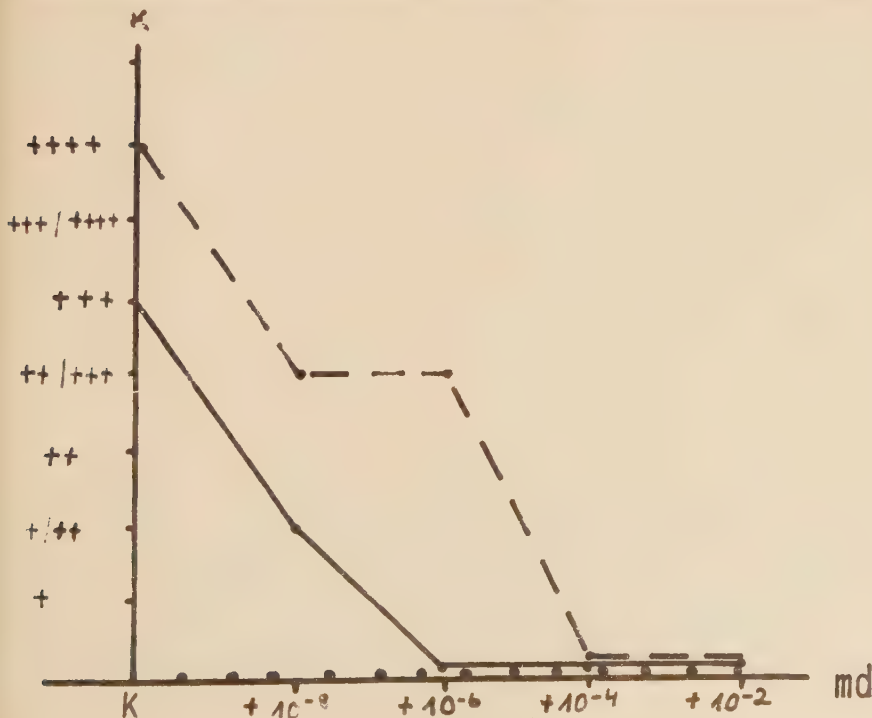
Zusammenfassend ist zu folgern, dass Mg-Ionen auf das *Trichophyton mentagrophytes* leicht wachstumshemmend, auf das *Mikrosporum gypseum* aber fördernd einwirkten.

II. Das Verhalten der Testpilze nach Zusatz von Kobaltionen

Nach Zusatz der Verdünnungen von Kobalt zu den Kulturröhrchen des *Mikrosporum gypseum* wie auch des *Trichophyton mentagrophytes* sistierte das Wachstum der Pilze vollständig bis zur Verdünnung von 10^{-4} bzw. 10^{-6} . In höheren Verdünnungen von 10^{-6} bzw. 10^{-8} war nur ein sehr geringgradiges Wachstum der Testpilze zu beobachten.

ABBILDUNG II

Wachstumskurve der Testpilze nach Zugabe der Verdünnungen von Kobalt (Co)



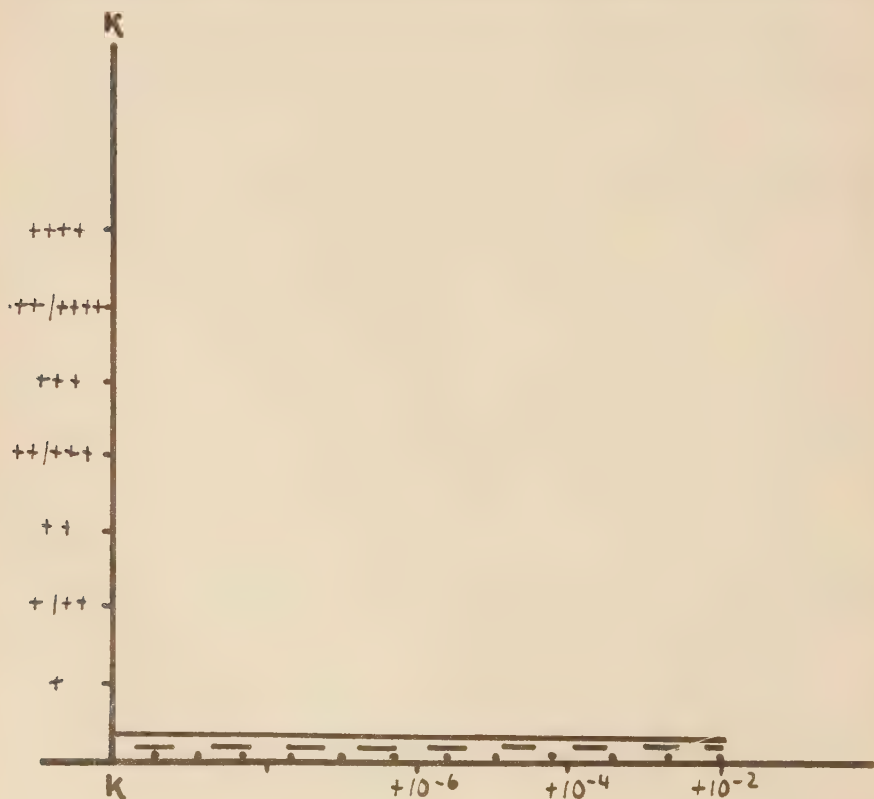
Zusammenfassend ist zu sagen, dass geringgradige Kobaltverdünnungen wachstumshemmend wirken, während sich in den höheren Verdünnungen 10^{-6} bzw. 10^{-8} die Entwicklungsbehinderung der Testpilze noch nicht so deutlich auswirkt.

III. Das Verhalten der Testpilze nach Zusatz von Kupferionen

Nach Zugabe der Kupferverdünnungen zu den Kulturröhrchen des Trichophyten mentagrophytes und des Mikrosporum gypseum trat auch in den höchsten Verdünnungen von 10^{-6} kein Wachstum ein, wie es Abbildung III veranschaulicht. Die Molekularkonzentration 10^{-8} wurde bei diesem Metall nicht geprüft.

ABBILDUNG III

Wachstumskurve der Testpilze nach Zugabe der Verdünnungen von Kupfer (Cu)



Demnach wirken Kupferzugaben absolut hemmend.

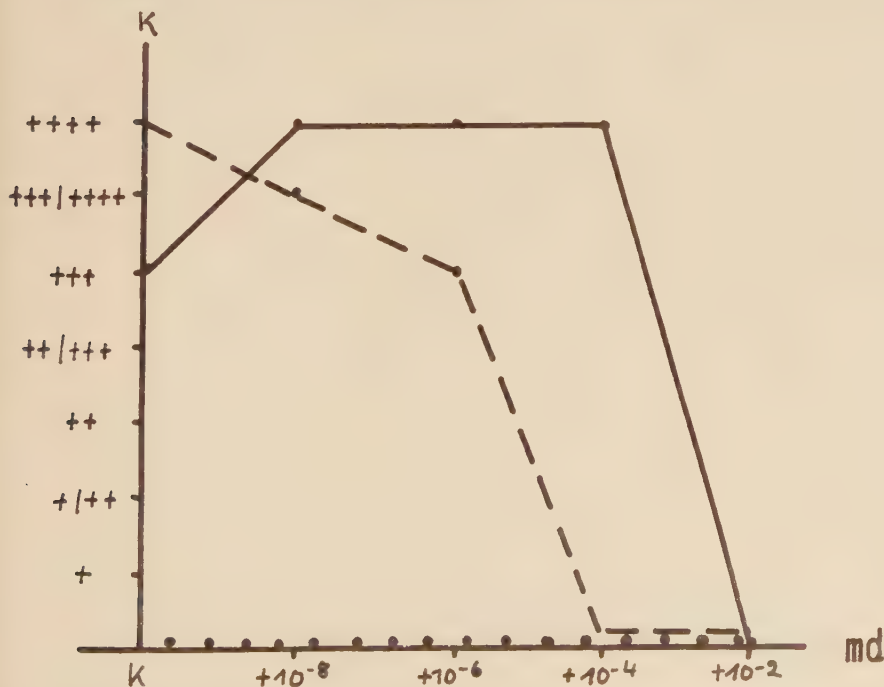
IV. Das Verhalten der Testpilze nach Zusatz von Zinkmationen

Nach Zusatz der Verdünnungen von Zink zu den Kulturröhrchen des *Trichophyton mentagrophytes* trat bis zur Verdünnung 10^{-4} eine stark wachstumshemmende Wirkung auf, hingegen wuchs der Pilz nur wenig in den stärkeren Verdünnungen 10^{-6} und 10^{-8} . Die Entwicklung lag ein bis zwei Grade unter dem Wachstum der Kontrollröhrchen (s. Abbildung IV).

In den Kulturröhrchen des *Mikrosporum gypseum* war in der niedrigsten Verdünnung 10^{-2} kein Wachstum zu verzeichnen, hingegen trat in den höheren Verdünnungen von 10^{-4} bis 10^{-8} eine Förderung des Wachstums ein, das bemerkenswerterweise sogar 2 Grade über dem Wachstum der Kontrollröhrchen lag (s. Abb. IV).

ABBILDUNG IV

Wachstumskurve der Testpilze nach Zugabe der Verdünnungen von Zink (Zn)



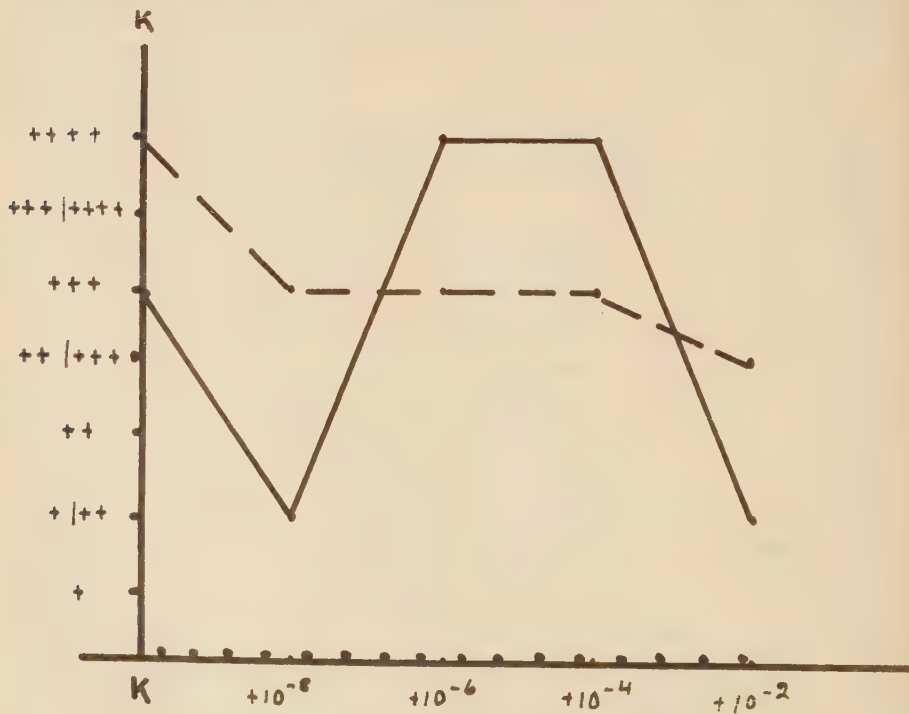
Zusammenfassend ist zu sagen, dass Zugaben von Zinkkationen in den Verdünnungen von 10^{-6} und 10^{-8} sich für das *Trichophyton mentagrophytes* leicht wachstumshemmend, für das *Mikrosporum gypseum* wachstumsfördernd auswirkten.

V. Das Verhalten der Testpilze nach Zusatz von Bariumionen

Nach Zusatz der Verdünnungen des Bariums zu den Kulturröhrchen des *Mikrosporum gypseum* trat in den Verdünnungen 10^{-2} und 10^{-8} ein nur angedeutetes Wachstum des Testpilzes ein, während in den Verdünnungen von 10^{-4} und 10^{-6} eine fördernde Wirkung zu verzeichnen war, die 2 Grade über dem Wachstum der Kontroll-Röhrchen lag (s. Abb. V). Ein wenn auch schwächeres Wachstum war nach Zugabe der gleichen Verdünnungen in den Kulturröhrchen des *Trichophyton mentagrophytes* festzustellen. Das Wachstum bei Zugabe der Verdünnungen 10^{-2} lag 3 Grade und bei den Verdünnungen von 10^{-4} bis 10^{-8} 2 Grade unter dem der Kontrollröhrchen (s. Abb. V).

ABBILDUNG V

Wachstumskurve der Testpilze nach Zugabe der Verdünnungen von Barium (Ba)



Ein Vergleich ergibt, dass teilweise eine wachstumsfördernde Wirkung durch Barium eintrat (bei dem *Mikrosporum gypseum*), teilweise ein geringeres Wachstum als in den Kontrollröhrchen zu verzeichnen war (bei dem *Trichophyton mentagrophytes*). Auffallend ist in der Entwicklungskurve des *Mikrosporum gypseum* der Abfall des Wachstums in der Verdünnung 10^{-8} . Das gleiche Phänomen konnte auch bereits in der Kurve des *Mikrosporum gypseum* nach Zugabe von Magnesiumionen beobachtet werden.

Wir fanden also: Der Pilz *Epidermophyton floccosum* liess sich nur auf festen Nährböden zur Entwicklung bringen, nicht aber unter den gegebenen Versuchsbedingungen in flüssigen Nährmedien. Die beiden Pilzarten *Mikrosporum gypseum* und *Trichophyton mentagrophytes* wuchsen im flüssigen Nährmedium annähernd gleich gut. Nach Zugabe von Verdünnungen 10^{-2} bis 10^{-8} der Ionen Barium, Kupfer, Zink, Magnesium und Cobalt war ein unterschiedliches Verhalten des Wachstums in den Kulturröhrchen zu finden. Teilweise kam dies in einer Förderung, teilweise in einer Hemmung zum Ausdruck. In den Abbildungen VI und VII ist der Einfluss der zugegebenen Metallionen auf das Wachstum der beiden Testpilze übersichtlich dargestellt.

ABBILDUNG VI

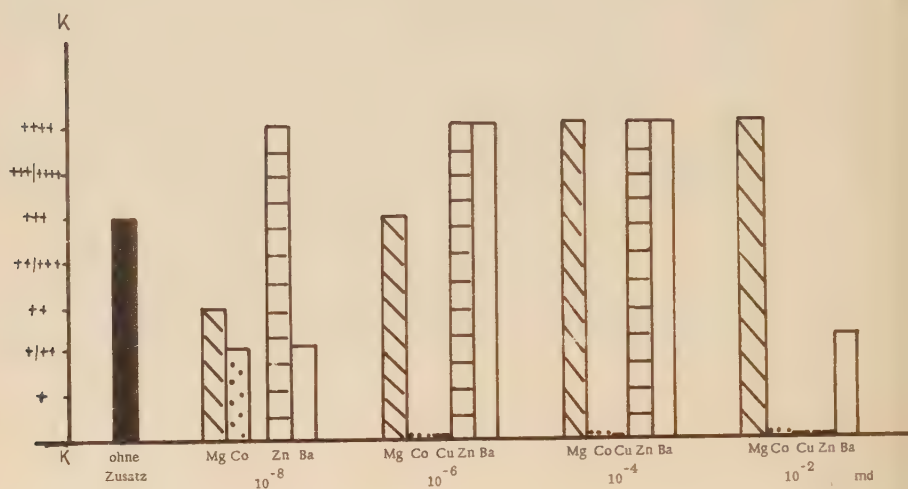
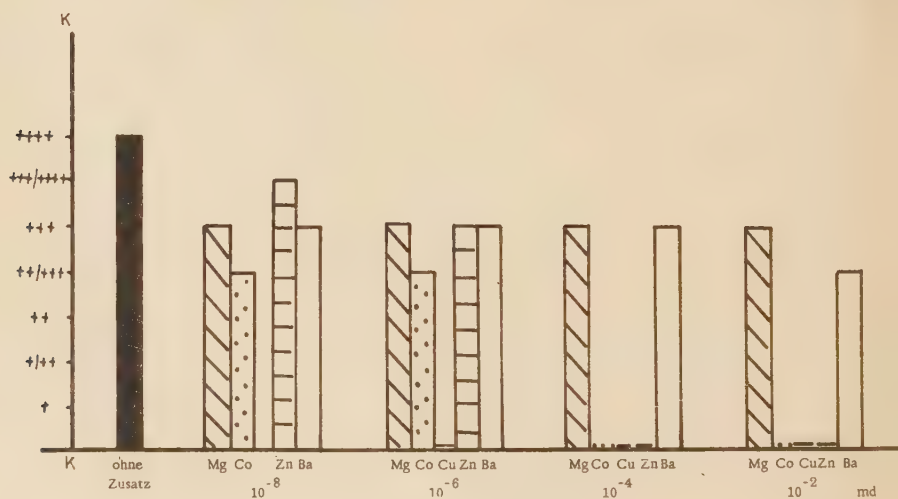
Der Einfluss der Metallionen auf das Wachstum des *Mikrosporum gypseum*

ABBILDUNG VII

Der Einfluss der Metallionen auf das Wachstum des *Trichophyton mentagrophytes*

D. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

In der vorliegenden Arbeit stellten wir Untersuchungen über das Wachstum von Dermatophyten nach Zugabe von Metallionen an. Als Testpilze wurden zunächst:

1. *Mikrosporum gypseum*
2. *Trichophyton mentagrophytes*
3. *Epidermophyton floccosum*

herangezogen. Alle drei Myzeten sind gute Sporenbildner. Das *Epidermophyton floccosum* eignete sich für unsere experimentellen Arbeiten mit flüssigen Nährböden jedoch nicht (Wachstum = 0). Auch das *Mikrosporum gypseum* und das *Trichophyton mentagrophytes* zeigten unter den Versuchsbedingungen auch ohne Metallionenzusätze eine Entwicklungsverzögerung, verglichen z. B. mit dem Wachstum auf einem GRÜTZ III-Nährboden. Wir hatten uns zur Verwendung eines flüssigen Nährbodens (3 % d-Glukose, 2 % NH_4NO_3) entschliessen müssen, da sich im Verlauf unserer Vorversuche herausstellte, dass feste Nährböden sehr zahlreiche Spurenelemente als Verunreinigung enthielten. Flüssige Nährböden liessen sich vermittels der Bogenphotospektrographie leichter analysieren, wodurch wir Substanzen mit stärkeren Verunreinigungen in den Versuchen weitgehend vermeiden konnten. Die Rücküberimpfung von Pilzmaterial aus den flüssigen Nährböden auf einen festen Nährboden nach GRÜTZ III ergab makroskopisch kein typisches Bild. Die etwas glänzenden Kolonien erschienen flach mit abgeschwächtem Farbton und leicht faviformer Beschaffenheit. Solche Unterschiede des makroskopischen Aussehens der Pilzkulturen sind bekannt und können einmal abhängig sein von physikalischen Faktoren wie Nährbodenfeuchtigkeit, Oberflächenspannung und osmotischem Druck (GÖTZ, LEWIS), zum anderen aber auch Ausdruck einer Schädigung durch den flüssigen Hungernährboden darstellen. Dabei zeigte der pH-Wert in der flüssigen Kultur nach 10wöchiger Bebrütung eine leichte Verschiebung der Werte im Sinne einer erhöhten Wasserstoffionenkonzentration (Ausgangswert 5,7 bis 5,9 - Verschiebung bis 5,4 - 5,6). Dies ist offenbar auf Umsetzungen bzw. Abbau der Kohlehydrate zurückzuführen (GÖTZ).

Bevor wir mit der Prüfung des Pilzwachstums unter Zugabe von Metallionen beginnen konnten, mussten wir die Kontrolluntersuchungen auf Spuren der in Frage kommenden Metallionen durchführen. Da die chemische Analyse zur quantitativen und qualitativen Feststellung dieser Spuren eine zu grosse Fehlerbreite ergibt, bedienten wir uns - wie bereits erwähnt - des Verfahrens der Bogenphotospektrographie nach GERLACH und GERLACH. Diese Methode hat den Vorzug, dass jedes Element ein charakteristisches Spektrum zeigt, dessen Intensität sich proportional zur Konzentration verhält. Wir wählten für unsere Untersuchungen Barium-, Kobalt-, Kupfer-, Magnesium-, Zink- und Eisenionen. Letztere eigneten sich nicht,

da sich Hydroxyd-Niederschläge bildeten. Die Verdünnung der Salze geschah in Zehnerpotenzen, um ein breites Spektrum der ermittelten Wachstumskurven zu gewinnen.

Von den geprüften Metallionen zeigte Kupfer die grösste toxische Wirkung. Bereits ein Zusatz von 10^{-6} md Cu, d.h. 63 μ (so dass mit dem im Nährboden bereits primär vorhandenen Cu insgesamt 86 μ md vorlagen) verhinderte das Wachstum⁺⁾ . In ähnlicher Weise übten Zusätze von Kobalt eine schädigende Wirkung aus. Bei Kobaltverdünnungen von 10^{-2} bis 10^{-4} md zu dem Trichophyton mentagrophytes trat überhaupt kein Wachstum in der angegebenen Bebrütungszeit auf, und bei dem Mikrosporum gypseum war bis zur Verdünnung von 10^{-6} der gleiche Vorgang zu beobachten. In den stärksten Verdünnungen war jedoch ein wenn auch nur geringgradigeres Wachstum gegenüber den Kontrollkulturen vorhanden, wobei sich der Testpilz Trichophyton mentagrophytes nach Zugabe der Verdünnung von 10^{-6} gegenüber dem Mikrosporum gypseum ausnahmsweise durch eine stärkere Toleranz auszeichnete. Nach Zugabe von Bariumkationen zu den mit Trichophyton mentagrophytes beimpften Kulturröhrchen konnten keine wesentlichen Unterschiede im Wachstum beobachtet werden, wenn auch im Ganzen nicht die Stärke der Kontrollröhrchen erreicht wurde. Dagegen waren die Unterschiede im Verhalten des Mikrosporum gypseum erheblich, da bei den Verdünnungen von 10^{-2} und 10^{-8} ein nur ganz geringgradiges Wachstum zu verzeichnen war, während in den Verdünnungen von 10^{-4} und 10^{-6} unter den Versuchsbedingungen ein optimales Wachstum erzielt werden konnte, das noch über jenes der Kontrolle hinausging. Nach Zugabe von Zink erwiesen sich die niedrigen Verdünnungen von 10^{-2} bzw. von 10^{-4} für das Trichophyton mentagrophytes als wachstumshemmend. Das Mikrosporum gypseum zeigte schon bei 10^{-4} üppige Entwicklung. In den höheren Verdünnungen von 10^{-6} bzw. von 10^{-8} ergab sich ein unterschiedliches, aber doch intensives Wachstum, wenn wiederum auch in diesem Fall die Wachstumsintensität des Trichophyton mentagrophytes im Kontrollröhrchen nicht erreicht wurde. Zugabe von Magnesium deckte bei dem Trichophyton mentagrophytes ein gleichmässiges Wachstum ohne Unterschiede bei den einzelnen Verdünnungen auf, das aber unterhalb jenem der Kontrollröhrchen blieb. Das Mikrosporum gypseum liess durch Magnesium in den Verdünnungen 10^{-2} bis 10^{-4} ein gleichmässiges und gutes Wachstum erkennen, während in den Verdünnungen 10^{-6} und 10^{-8} eine Abschwächung eintrat. Auffallend ist die Reduktion des Wachstums des Pilzes Mikrosporum gypseum in den Verdünnungen 10^{-8} durch Barium und Magnesium. Ein technischer Fehler konnte ausgeschlossen werden, da bei wiederholten Versu-

+) Die restlichen zu den Versuchen verwendeten Metallionen waren primär nur in so geringer Menge im Nährboden vorhanden, dass sie keinerlei toxische Wirkung ausübten.

chen immer das gleiche Resultat erhalten wurde. Auch die Prüfung des pH-Wertes zeigte keine nennenswerten Unterschiede in der Wasserstoffionenkonzentration der verschiedenen Metallionenverdünnungen. Eine mögliche Erklärung dieses Phänomens wäre, dass das wachstumsfördernde enzymatische System durch die Konzentration des Bariums bzw. Magnesiums in der Verdünnung von 10^{-8} in der Kultur aufgehoben oder neutralisiert wurde. Auch wäre an einen möglichen Antagonismus zwischen den in der Lösung bereits vorhandenen und den zugegebenen Metallionen zu denken. Die Anionen könnten ebenfalls eine gewisse Rolle gespielt haben, doch ist deren Einfluss bei mykologischen Fragestellungen bisher nicht exakt geprüft worden.

Die Zugabe von $6,0 \cdot 10^{-3}$ Cu auf 100 cm^3 (insgesamt $8,6 \cdot 10^{-3}$) Kulturmedium verhinderte das Wachstum des *Mikrosporum gypseum* und *Trichophyton mentagrophytes*, während sich für den *Aspergillus niger* und das *Bacterium coli* erst eine Konzentration von 1 mg bzw. 6,3 mg % als schädlich erwies. Die hemmende Wirkung des Kobalt auf das *Bacterium coli* (2,95 mg %) machte sich erst bei grösserer Konzentration bemerkbar, als dies bei dem *Trichophyton mentagrophytes* (0,59 mg %) und dem *Mikrosporum gypseum* der Fall war (5,9 mg %). Dagegen vertrugen die Testpilze höhere Konzentrationen von Magnesium (24 mg %) und Barium (137 mg %); aber nur niedrige von Zink (*Trichophyton mentagrophytes* 8,7 mg %, *Mikrosporum gypseum* 0,65 mg %). Die Metallionenkonzentrationen, die vergleichsweise das Wachstum des *Bacterium coli* förderten, lauten: Magnesium 0,6 g %, Barium 1,37 g % und Zink 32,5 mg %.

Die durch unsere Untersuchungen ermittelte Tatsache, dass durch Zusätze von Kupfer und Kobalt eine stark hemmende Wirkung auf das Pilzwachstum ausgeübt wird, eröffnet die Möglichkeit der Verwendung solcher Zusätze in der Therapie.

E. ZUSAMMENFASSUNG

An zwei verschiedenen Dermatophyten (*Mikrosporum gypseum* und *Trichophyton mentagrophytes*) wurden Metallionenzusätze in verschiedenen Konzentrationen hinsichtlich ihrer Beeinflussung des Wachstums geprüft. In nachstehender Reihenfolge erwiesen sich die Metallionen einerseits als stark wachstumshemmend: $\text{Cu} > \text{Co} > \text{Zn}$, andererseits als wachstumsfördernd (*Mikrosporum gypseum*): $\text{Mg} > \text{Ba} > \text{Zn}$. Der Erfolg hängt zum Teil von der Konzentration ab (Zn). Wenn auch $\text{Mg} > \text{Ba} > \text{Zn}$ in gleicher Reihenfolge wie beim *Mikrosporum gypseum* auf das *Trichophyton mentagrophytes* eine positive Beeinflussung des Wachstums erkennen liessen, so wurde die Entwicklungsstärke in den Kontrollröhrchen doch nicht erreicht. Das *Trichophyton mentagrophytes* erwies sich somit gegenüber den Metallionen als empfindlicher denn das *Mikrosporum gypseum*. Der Nachweis von Spurenelementen im Nährboden erfolgte mittels der Bogenphoto-spektrographie. Auf die Möglichkeit der Verwendung von Kupfer und Kobalt bei der Therapie der Pilzkrankung des Menschen und der Tiere wird hingewiesen.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. BERTRAND, M. G.: Sur le rôle capital du manganèse dans la production des conidies de l'*Aspergillus niger*. Ann. Inst. Pasteur, 26, 773 - 77 (1912)
2. BORTELS, H.: Über die Bedeutung von Eisen, Zink und Kupfer für Mikroorganismen, unter besonderer Berücksichtigung von *Aspergillus niger*. Biochem. Zeitschr. 182, 301 - 358 (1927)
3. DELÉPINE, A. S. and GREENWOOD, A.:
zit. nach TOPLEY-WILSON:
Principles of Bacteriology and Immunity. Third Edition.
Vol. I, 120 - 125 (1948)
4. EISENBERG, P.:
zit. nach TOPLEY-WILSON:
Principles of Bacteriology and Immunity. Third Edition.
Vol. I
5. GEORG, L.: Dermatophytes, New Methods in Classification, Communicable Disease Center, Atlanta, Georgia, USA (1957)
6. GERLACH, Wa. und GERLACH, We.:
Die chemische Emissionsspektralanalyse II. Teil;
Anwendung in Medizin, Chemie und Mineralogie.
Verlag Leopold Woss, Leipzig (1939).
7. GÖTZ, H.: Ergänzungswerk des JADASSOHN'schen Handbuches für Dermatologie und Venerologie, Bd. IV/3, herausgegeben von MARCHIONINI und GÖTZ: Dermatomykosen. Springer-Verlag, Berlin (im Druck)
8. GÖTZ, H.: Der Einfluss des Pilzwachstums auf die Wasserstoffionenkonzentration des Nährbodens. Arch. f. klin. u. exper. Dermat. 211, 328 (1960)
9. GOTTRON, H. und W. SCHÖNFELD:
Dermatologie u. Venerologie, Bd. II, Teil 2.
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1958)

10. HART, STEENBOCK, WADDEL and ELVEHJEM:
Iron in Nutrition. VII. Copper as a supplement to iron
for hemoglobin building in the rat. J. Biol. Chem.
77, 797 - 812 (1928)
11. HAWK, P.H.: Practical Physiological Chemistry, 12th Edition:
London Churchill Ltd. (1949)
12. KIENE, E.: Über die Wirkungen der Spurenelemente an der Verm.
d. Hefe synth. Lös.; Vorratspfl. u. Lebensmittelf. 3,
446 (1940)
13. LEWIS, HOPPER, WILSON, PLUNKETT:
Medical Mycology. The Year Book Publishers, Inc. -
Chicago (1958)
14. MAC CARDLE, ENGMAN and ENGMAN:
Spectrographic analysis of neurodermatitic lesions;
human magnesium deficiency. Arch. Dermat. and Syph.
44, 429 - 440 (1941)
15. MAC COLLUM and ORENT:
Effects on the rat of deprivation of magnesium.
J. Biol. Chem. 92, XXX (1931)
16. MARSTON:
Cobalt, copper and molybdenum in the nutrition of
animals und plants. Physiol. Rev. 32, 66 - 121 (1952)
17. METZ, O.: Über Wachstum und Farbstoffbildung einiger Pilze unter
dem Einfluss von Eisen, Zink und Kupfer. Arch. f.
Microbiol. 1, 197 - 251 (1930)
18. NIETHAMMER, A.: Technische Mykologie: Bedeutung der Metalle und ih-
rer Verbindungen. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
(1947)
19. ORENT, KRUSE and MAC COLLUM:
Studies on Magnesium deficiency in animals. Amer.
J. Physiol. 101, 454 - 461 (1932)
20. PIRSCHLE, K.: zit. bei NIETHAMMER
21. RAULIN, J.: Études chimiques sur la végétation. Ann. scienc. natur
V. T. 11, 93 (1869)
22. RIPPEL-BALDES: Grundriss der Mikrobiologie. 3. Auflage, Springer
Verlag, Heidelberg (1955)

23. ROBERG, M.: Über die Wirkung von Eisen-, Zink- und Kupfersalzen auf Aspergillen. Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, 74, 333 - 370 (1928)
24. SAITO, T.: Studies upon the molds growing in high concentration of sulfuric acid and copper sulfate. J. Agric. Chem. Soc. of Japan 15, 359 (1939)
25. SAKAMURA, T.: Über einige für die Kultur von Aspergillen notwendige Schwermetalle und das Befreiungsverfahren der Nährlösung von ihren Spuren. Journ. Fac. Sci Hokkaido Imp. Univ., Series V, 4, 99 - 116 (1936)
26. SAUTON, B.: Influence du fer sur la culture de quelques moisissures. Ann. Inst. Pasteur 25, 922 - 928 (1911)
27. SCHULTZE: Metallic elements and blood formation. Physiol. Rev. 20, 37 (1940)
28. SCHWARTZ, W. und H. STEINHARDT: Untersuchungen über die oligodynamische Wirkung des Kupfers auf Mikroorganismen. Arch. Mikrobiol. 4, 301 (1933)
29. SHELLINE, CHAIKOFF, JONES and MONTGOMERY: Studies on the metabolism of zinc with the aid of its radioactive isotope. J. Biol. Chem. 147, 409 - 414 (1943)
30. STEINBERG, R. A.: A study of some factors in the chemical stimulation of the growth of Aspergillus niger. Amer. J. Bot. 6, 360 (1919)
31. STEINBERG, R. A.: A study of some factors in the chemical stimulation, of the growth of Aspergillus niger. Amer. J. Bot. 6, 336 - 372 (1919)
32. STEINBERG, R. A.: Some effects of the heavy metals for the nutrition of Aspergillus niger upon its growth. Amer. J. Bot. 23, 227 (1936)
33. STEINBERG, R. A.: Effects of Barium salt upon Aspergillus niger and their bearing upon the sulphur and zinc metabolism of the fungus in a optimum solution. Bot. Gaz. 97, 666 (1935)

34. WINSLOW, C.-E. A. and HOTCHKISS, M.:
zit. nach TOPLEY-WILSON:
Principles of Bacteriology and Immunity. Third Edition
Vol. I (1948)
35. WOLFF, L. K. und EMMERIE, A.:
Über das Wachstum des *Aspergillus niger* und den Kupfergehalt des Nährbodens. Biochem. Ztschr. 228, 443 - 450 (1930)

Herrn Professor Dr. H. GÖTZ, Oberarzt der Universitäts-Hautklinik zu München, bin ich für die Themenstellung und Mühewaltung zu besonderem Dank verpflichtet. Frau Dipl. -Chem. G. PASCHER und Herrn Dipl. -Physiker D. FROMM möchte ich auch meinen herzlichen Dank aussprechen. Deren stete, wertvolle Hilfe hat das Zustandekommen dieser Arbeit ermöglicht.

LEBENS LAUF

Am 27.10.1930 wurde ich, Emmanuel Aronis, als Sohn des Kaufmanns Anton Aronis (gestorben 1956 in Athen) und seiner Ehefrau Angelika, geb. Sergakis in Athen/Griechenland geboren. Von 1937 bis 1940 besuchte ich die Volksschule und anschliessend das humanistische Gymnasium "PROTYPON LYKION" in Athen, wo ich im Juli 1948 das Abitur ablegte. Nach Absolvierung einer Eintrittsprüfung wurde ich an der Medizinischen Fakultät der Universität zu Athen immatrikuliert. Im Juni 1957 legte ich nach kurzer Unterbrechung das medizinische Staatsexamen mit Erfolg ab. Seit Juli 1957 befinde ich mich zwecks Ausbildung zum Facharzt für Haut- und Geschlechtskrankheiten an der Universitäts-Hautklinik zu München. Von Oktober 1959 bis November 1960 war ich Forschungsstipendiat der "Alexander von Humboldt-Stiftung". Seit Dezember 1960 bin ich wissenschaftlicher Mitarbeiter der Deutschen Forschungsgemeinschaft.



